

インテグリン機能調節を介したがん細胞のプログラム細胞死誘導

《研究の概要》

細胞の生存と増殖には、増殖因子受容体を介したシグナルのみならず、接着受容体インテグリンを介した細胞外マトリックス (ECM) への接着も必須の役割を果たしており、正常細胞は脱着すると増殖休止するか死に至る。正常細胞のこの足場拘束性は、がん化によるインテグリンの発現減少あるいは機能異常に伴って低下し、無秩序な生存・増殖能を獲得する。私達は、接着の足場となるマトリックス蛋白分子の内部には、インテグリン活性化を正負に調節する機能部位が存在することを明らかにした。即ち、テネシン (TN) -C 分子のフィブロネクチン (rN) III 型様リピート (FNIII) 由来のペプチド TNIII および FN 分子の 14 番目の FNIII 由来のペプチド FNIII14 は、 $\beta 1$ インテグリンの活性化をそれぞれ正・負に制御する。これら 2 種のペプチドの内、後者のペプチド TNIII を用いて細胞足場拘束性が低下した悪性腫瘍細胞のインテグリンを活性化させ、これにより腫瘍細胞を強制的に接着させると、その造腫瘍性が低下すると共にプログラム細胞死 (アポトーシスとオートファジー) が誘導される。重要なことに、TNIII は正常線維芽細胞の生存/増殖はむしろ亢進する。一方、いくつかの悪性腫瘍細胞では、ECM 接着によって抗がん剤耐性 (cell adhesion-mediated drug resistance, CAM-DR) を獲得することが報告されているが、FNIII14 を用いて悪性腫瘍細胞の $\beta 1$ インテグリンを不活性化すると、その抗がん剤感受性が飛躍的に上昇することが明らかになった。

本研究では、インテグリンを分子標的とした新しいタイプの抗がん剤創製を展望し、インテグリン活性化ペプチド TNIII を用いた系においては、TNIII による $\beta 1$ インテグリン活性化の分子機構を明らかにすると共に、インテグリン活性化による悪性腫瘍細胞のプログラム細胞死の誘導機序の解明を目指す。インテグリン不活性化ペプチド FNIII14 に関しては、その反接着作用に基づいて、急性骨髄性白血病 (AML) 細胞のフィブロネクチン接着に起因する骨髄微小残存の根絶治療法淵発の基礎的検討を実施し、以下の成果を得た。

- 1) 細胞膜貫通型プロテオグリカンである syndecan-4 が TNIII の受容体として機能し、 $\beta 1$ インテグリンとの lateral interaction を通してコンフォーメーション変化を誘導して $\beta 1$ インテグリンを活性化する。
- 2) TNIII による悪性腫瘍細胞のプログラム細胞死誘導には、Rac 活性化とそれに伴う活性酸素種 (ROS) の産生が部分的に関与する。また、TNIII は恒常的活性化変異した Ras をもつ悪性細胞に対して特異的に作用し、MAPK/ERK 経路のネガティブフィードバック様不活性化ならびに二核化を伴う分裂異常を引き起こして細胞死を誘導する。
- 3) FNIII14 を抗がん剤と併用投与することによって、AML 細胞の抗がん剤感受性を増強し、これによって AML 細胞のマウス骨髄微小残存が根絶できる。

以上の結果は、インテグリンシグナルが悪性腫瘍細胞の生存シグナル系に深く関与することを示すと共に、インテグリン機能調節に基づいたがんの分子標的治療の可能性を示唆

しており、治療法開発のための重要な基礎的知見を提供するものである。

共同研究者

兒玉 浩明	佐賀大学 理工学部	ペプチド類全般の合成と修飾
	準教授	
松永 卓也	札幌医科大学 医学部	白血病モデルマウスを使った in vivo 実験
	講師	

計 2 人

I. 研究目的

我々が見いだした 2 種類のペプチド因子、すなわち TNIII および FNIII14 は、 $\beta 1$ インテグリン機能をそれぞれ正・負にコントロールすることによって、悪性腫瘍細胞の生存に重大な影響を及ぼすことが明らかになっている。そこで本研究では、TNIII に関しては、そのインテグリン活性化の分子機構とそれに伴う悪性細胞のプログラム細胞死誘導機序の解明を中心に研究を行った。一方、ある種の造血器悪性腫瘍細胞において、フィブロネクチン接着によって抗がん剤耐性を獲得する現象、『接着依存性薬剤耐性、Cell Adhesion-Mediated Drug Resistance (CAM-DR)』が報告されている。特に、急性骨髄性白血病 (AML) においては、 $\beta 1$ インテグリンの一つである VLA-4 を介した骨髄フィブロネクチンへの接着と、それに基づく AML 細胞の骨髄微小残存が AML 再発の重大な要因であることが明らかにされている。そこで、FNIII14 に関しては、その $\beta 1$ インテグリン不活性化作用を利用して、AML 細胞の接着依存性薬剤耐性の獲得を阻害し、抗がん剤との併用投与による骨髄微小残存病変の根絶を目標としてそれぞれ検討を実施した。

II. 研究方法と成果

II-1. TNIII による $\beta 1$ インテグリン活性化の分子機構

以下の結果は、細胞膜貫通型プロテオグリカン syndecan-4 が TNIII のインテグリン活性化作用を媒介することを示している：1) TNIII によるインテグリン活性化は、ヘパリン添加あるいは細胞の heparitinase 処理によって消失する、2) 光反応性官能基 Bpa および分子プローブとしてビオチンを結合させた TNIII (Bi-TNIII-Bpa) を用いたアフィニティー標識により、細胞膜ヘパリン硫酸プロテオグリカンが TNIII 結合性タンパクとして検出される、3) TNIII 固定化ビーズを用いたアフィニティークロマトグラフィーによって、syndecan-4 が分離される、3) siRNA によって syndecan-4 をノックダウンすると TNIII 作用が低下し、syndecan-4 コアタンパクの過剰発現によって TNIII 作用が上昇する。また、syndecan-4 の細胞内ドメインを欠損した変異体を過剰発現しても、あるいは syndecan-4 の細胞内ドメインと結合してそのシグナリングに関わるとされる PKCa 阻害剤を加えても、TNIII によるインテグリン活性化には影響がなかったことから、TNIII によるインテグリン活性化は syndecan-4 が媒介するものの、その細胞内ドメインを介したシグナル伝達系は関与しないことが示された。更に、TNIII によるインテグリン活性化は、methyl- β -dextrin によって細胞膜コレステロールを除去すると消失したことから、膜脂質/ラフトの関与が推測された。以上を総合し、TNIII によるインテグリン活性化の分子機構として

以下のプロセスが推測される。TNIII が syndecan-1 のヘパラン硫酸鎖に結合すると syndecan-4 はその細胞外領域で $\beta 1$ インテグリンと結合し、インテグリンのコンフォメーション変化を誘導して活性化する。この一連のプロセスは、細胞膜上の脂質/ラフト内で進行すると考えられる。(結果は紙面の都合で全て省略)

II-2. インテグリン活性化に伴う悪性細胞のプログラム細胞死誘導機序

Rac 経路を介した ROS (活性酸素種) 産生: インテグリンを介した細胞機能制御の一部は、細胞骨格系の調節に基づいている。そこで、細胞骨格系に関与し、Ras シグナルとの関係も示唆されている Rac 経路に着目した。

まず、Rac の活性化を Rac activity assay により調べたところ、TNIII により Rac の顕著な活性化が確認された (図 1A)。さらに、Rac の活性化とアポトーシスの関係を探るため、Rac のドミナントネガティブ変異体をトランスフェクトした WI38VA13 を用いて、TNIII を処理したときの細胞応答について、コントロールベクター (pEGFP) をトランスフェクトした WI38VA13 と比較した。その結果、ドミナントネガティブ Rac をトランスフェクトした細胞では、コントロール細胞に比べて TNIII による細胞死が部分的にブロックされた (図 1B)。

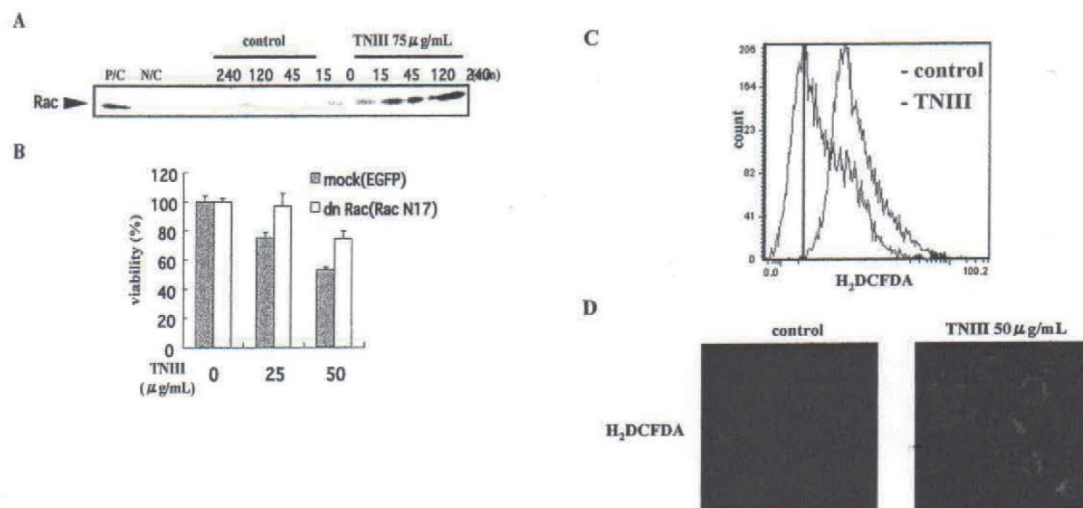


図 1. TNIII 誘導性細胞死への Rac 活性化およびそれに伴う Ros 産生の関与

Rac は、活性化に伴って細胞内 ROS 産生を誘導し、細胞死を引き起こすことが知られている。そこで、細胞内 ROS 産生を carboxy-H₂DCFDA (ROS 特異的に加水分解され、蛍光を発する色素) を用いて検出し、LSC (laser scanning cytometer)、共焦点顕微鏡で確認したところ、TNIII を作用させて 6 時間後に顕著な ROS 産生が認められた (図 1C, D)。さらに、TNIII による W138VA13 のアポトーシス誘導は、抗酸化剤 N-acetylcysteine の併用によって部分的にブロックされた (省略)。以上より、Rac 活性化による細胞内 ROS 産生増加が、TNIII 誘導性のプログラム細胞死に少なくとも部分的に関与していることが明らかになった。

Ras 活性化状態の相異に基づく TNIII に対する細胞応答の変化: TNIII は悪性線維肉腫様

細胞 W138VA13 に対してはプログラム細胞死を誘導するが、マウス正常繊維芽細胞 NIH3T3 では逆にその生存/増殖を促進することが既に明らかになっている。そこで、この TNIII 応答に相異が生じる分子的基盤を明らかにするために以下の検討を行った。

インテグリンが活性化に伴って Ras が活性化されることは周知のことである。そこで、正常繊維芽細胞 NIH-3T3 と悪性細胞 W138VA13 を用いて、TNIII によって $\beta 1$ インテグリンを活性化した時の Ras の活性化応答を比較してみた。NIH-3T3 に TNIII を作用させると、 $\beta 1$ インテグリンの活性化に伴ってその FN 接着が亢進することを既に報告したが、この時、不活性化状態にあった Ras が TNIII によって活性化されることが示された (図 2)。一方、W138VA13 では、NIH-3T3 とは明らかに異なり、未刺激状態においても既に Ras が活性化状態にあったが (図 2; 0 min)、TNIII を作用させると一過的に Ras が不活性化されることが明らかとなった (図 2; 15, 30min)。

この相反する作用の原因を探るため、W138VA13 では未刺激化においても Ras が恒常的活性化状態にあることに着目した。

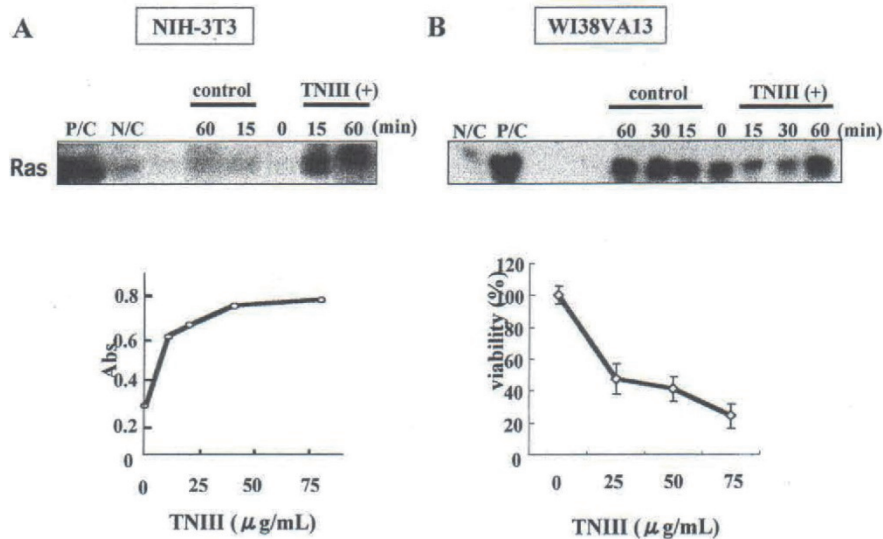


図 2. 正常および悪性細胞の TNIII に対する細胞応答 (Ras 活性化と生存) の違い

W138VA13 における Ras の不活性化：まず、W138VA13 を様々な濃度の TNIII で処理した時の Ras の活性化状態を調べたところ、高濃度 (45 $\mu\text{g/mL}$) の TNIII では、前述のように恒常的活性化状態にあった Ras が一過的に不活性化したのに対し、低濃度 (5-15 $\mu\text{g/mL}$) では興味深いことに NIH-3T3 の場合と同様に、更なる活性化が認められた (図 3)。

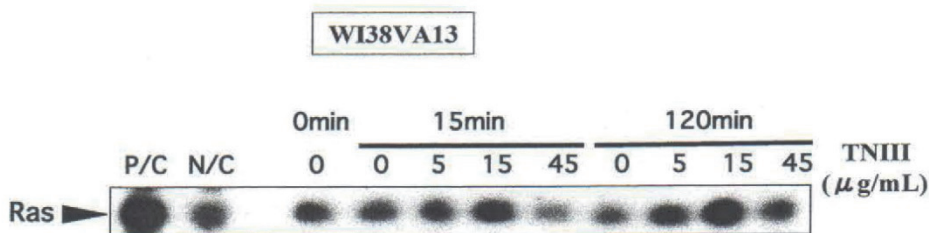


図 3. 悪性細胞の Ras 活性化の TNIII 用量依存性

また、W138VA13 に恒常的活性型 Ras をトランスフェクトすると、TNIII 非存在下でも細胞死が誘導されることが分かっている。そこで、Ras 下流シグナルである ERK、Akt 経路を、

MEK 阻害剤 U0126、PI3K 阻害剤 LY294002 により阻害すると、TNIII による Ras の不活性化が抑制された (図 4)。ちなみに、古典的 MAP キナーゼ経路を構成するシグナル分子からの Ras 活性化のネガティブフィードバックはよく知られた現象であるが、PT3K/Akt からのそれは全く報告がなく、興味ある結果である。

以上から、Ras が恒常的活性化状態にある WI38VA13 において、TNIII はネガティブフィードバックなどの機構により Ras を不活性化し、これが原因となって、前項で記述した細胞周期の停滞と細胞質分裂異常が引き起こされるのではないかと推測される。

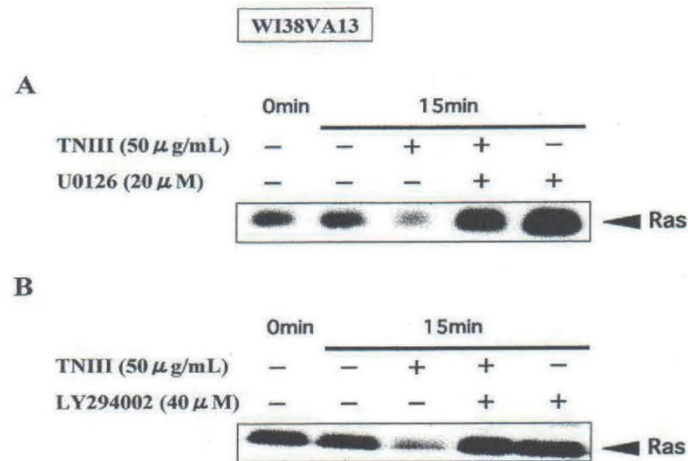


図 4. 悪性細胞における TNIII 誘導性の Ras の一過的不活性化

マウス乳がん細胞 (BALB/c-MC) における Ras の活性化：次に、マウス乳がん細胞 BALB/c-MC の未刺激状態での Ras 活性化状態を調べると、WI38VA13 とは対照的に不活性化状態にあった。そこに TNIII を作用させると、NIH-3T3 と同様に Ras の活性化が確認された (図 5A)。さらに、細胞増殖に関しても NIH-3T3 同様に、TNIII 濃度依存的な細胞増殖促進が見られた (図 5B)。

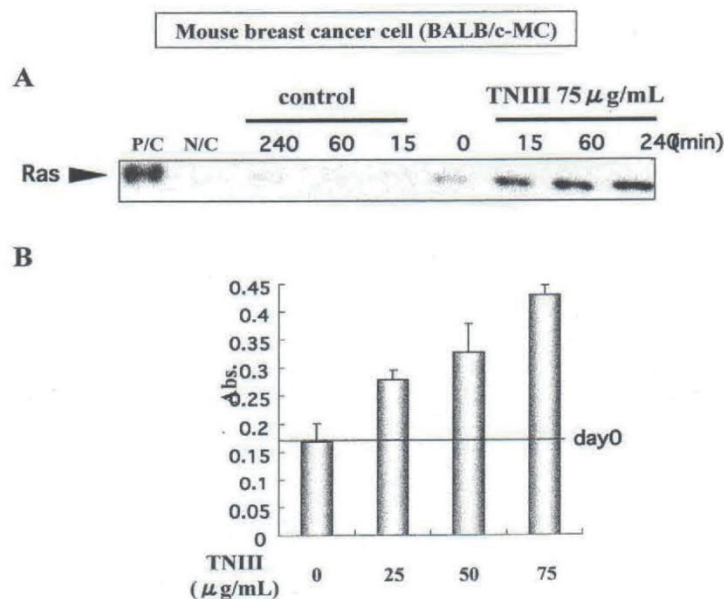


図 5. 正常繊維芽細胞の Ras 活性化と生存に及ぼす TNIII の作用

これらの結果から、正常細胞、がん細胞に関わらず、未刺激状態における Ras の活性化状態が TNIII による生存／増殖か死かの決定因子である可能性が示唆された。

Ras 変異による TNIII 応答の変化：Ras 活性化状態と TNIII 応答の相関性を直接的に調べるために、正常線維芽細胞 NIH-3T3 のドミナントアクティブ Ras 安定発現株 NIH-V7 を作製し、その TNIII 応答性を NIH-3T3 と比較した。まず、Ras activity assay により Ras の活性化状態を調べると、NIH-3T3 では不活性化状態にあった Ras が TNIII によって活性化されたのに対し、NIH-V7 では WJ38VA13 と同様に未刺激下においても恒常的活性化状態にあった Ras が、TNIII 処理により一過的に不活性化した（図 6）。また、MTT 法により細胞生存数を調べると、NIH-3T3 では TNIII 濃度依存的に生存細胞数が上昇したのに対し、NIH-V7 では WJ38VA13 と同様に TNIII 濃度依存的に生存細胞数が減少した（図 6）。

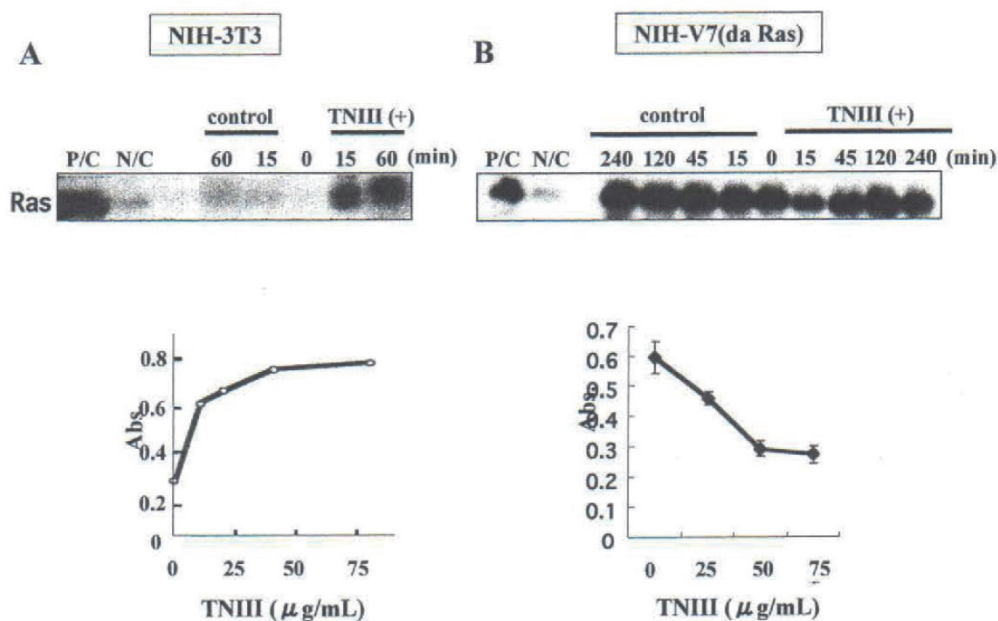


図 6. TNIII に対する細胞生存応答は Ras の活性化状態に依存する

さらに、両細胞株を TNIII 処理した時の核の形態を観察すると、NIH-3T3 では TNIII を作用させても変化は見られなかったが、NIH-V7 では TNIII 処理によって二核化細胞の出現が観察された（図 7）。WJ38VA13 でも TNIII による二核化が観察されている（結果省略）。

以上から、Ras が恒常的活性化状態にある細胞では、TNIII によって Ras が更に活性化されて、Ras 活性がオーバーフロー状態となったため、Ras 下流シグナルである ERK や Akt からのネガティブフィードバックシグナルのスイッチが入り、これにより二核化細胞の異常な蓄積が引き起こされたのではないかと推測された。

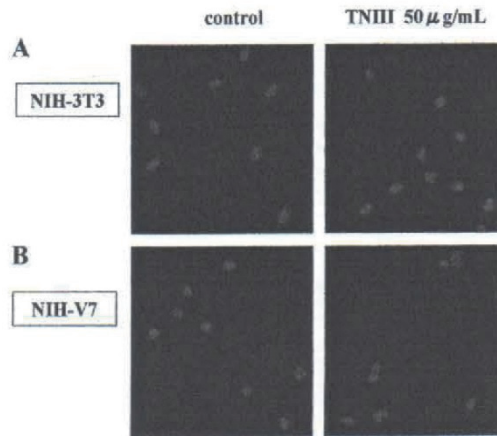


図 7. TNIII 処理による二核化細胞の出現

II-2. FNIII14 の反接着作用を利用した AML 細胞の骨髄微小残存病変の根絶の試み

造血器悪性腫瘍細胞がインテグリンを介して細胞外マトリックスに接着すると、抗がん剤耐性を獲得することが明らかにされつつある。急性骨髄性白血病 (AML) は再発が多く臨床上の深刻な問題となっているが、完全寛解期の患者骨髄に微小残存する AML 細胞 (微小残存白血病) が再発の主因であるとされている。最近、札幌医科大学の新津教授の研究グループは、AML 細胞のこの微小残存に $\beta 1$ インテグリン (VLA4) を介した骨髄フィブロネクチン接着が深く関与していることを明らかにした (図 8)。VLA4 を介したフィブロネクチン接着を阻害した条件下での抗がん剤治療によって、微小残存白血病が根絶できる可能性が期待される。一方我々は、フィブロネクチン由来のペプチド FNIII14 には、 $\beta 1$ インテグリンを不活性化することを先に見出している。そこで、この FNIII14 を抗がん剤と併用することにより、AML の骨髄微小残存を根絶することを目的として、新津教授の研究グループとの共同研究を開始した。

まず *in vitro* の実験系として、抗がん剤のヒト AML 細胞 U937 に対する殺傷作用 (LD50) が、フィブロネクチン接着によって低下するかどうか、更に FNIII14 によってフィブロネクチン接着から脱離させた時に抗がん剤の LD50 が変化するかどうかを解析した。その結果、Ara-C の U937 に対する LD50 は、フィブロネクチン接合によって約 1/10 に低下し接着によって抗がん剤耐性を獲得していることが示された (図 9)。

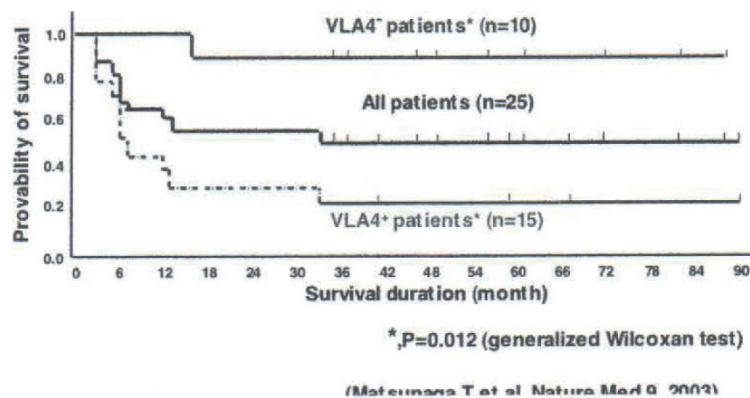


図 8. AML の再発は VLA-4 の発現に依存する。

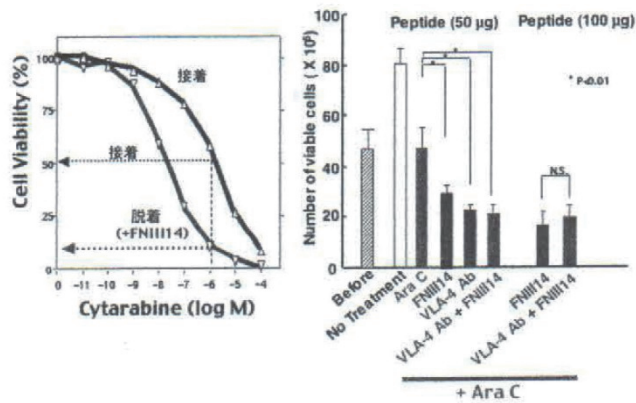


図 9. FNIII14 による AML 細胞の抗がん剤感受性増強 (in vitro 実験系)

そこで、Ara-C の U937 に対する LD50 を FNIII14 存在下・非存在下で比較したところ、期待通り LD50 の低下 (1/15-20) が認められた。そこで更に、in vivo での効果を観察すべく、ヒト AML 細胞を SCID マウスに移植して作製したヒト AML モデルに対して、抗がん剤 (Ara-C) と FNIII14 併用療法を施行した。未処置群は全てのマウスが死亡したが、Ara-C 投与群では 10 日間の延命が認められたものの、処置後 40 日までに全てのマウスが死亡した。これに対し、併用投与群は処置 2 か月後においても全てのマウスが生存しており、明らかで強力な延命効果が認められた。ただし、この状態はヒトにおける完全寛解状態である可能性が残るため、マウスの各臓器について PCR によりヒト遺伝子の検出、即ち移植した AML 細胞の残存を確認した。その結果、未処置群では骨髄にヒト遺伝子 ALU が検出されたのに対し、抗がん剤と FNIII14 併用群では全く検出されず、抗がん剤単独では得られない骨髄微小残存白血病の根絶が達成証明された。

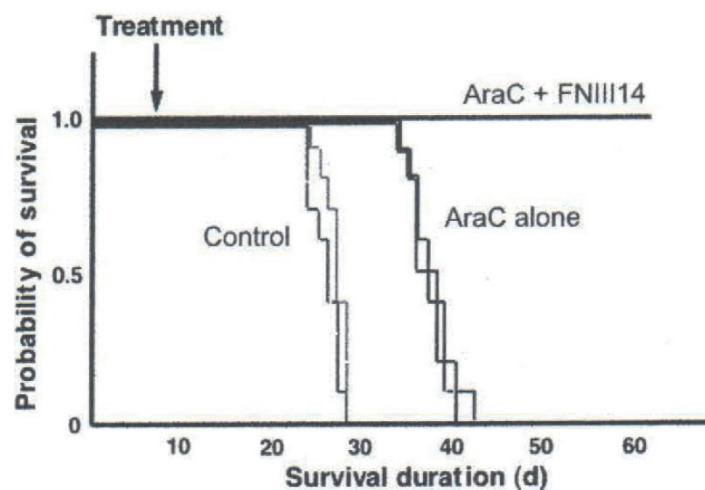


図 10. 抗がん剤と FNIII14 併用投与による延命効果。

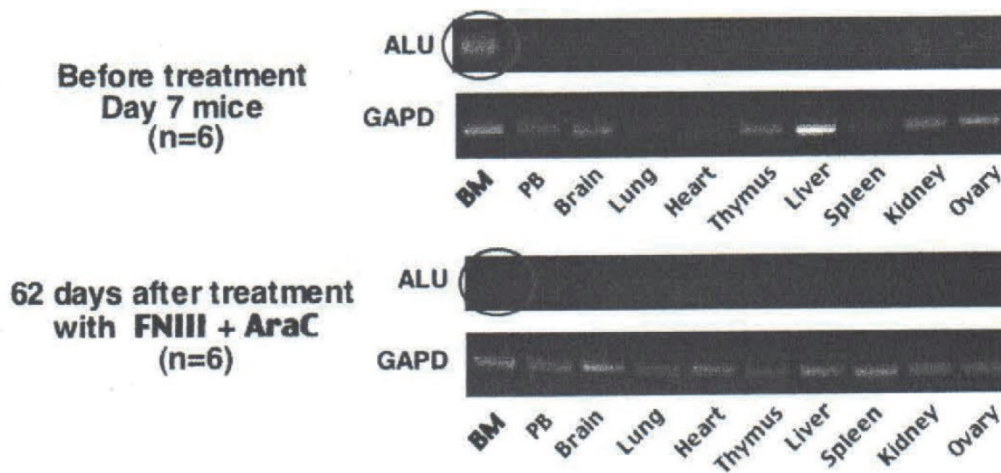


図 11. 抗がん剤と FNIII14 併用投与による AML 細胞の骨髄微少残存の根絶

II-3. インテグリン機能調節性ペプチドの高機能化の試み

インテグリン機能調節性ペプチドを抗がん剤として利用することを考慮し、その生体内安定性の向上と修飾による活性増強を試みた。TNIII については高機能化の前段階としてペプチド TNIII 内の活性配列の決定を、また、FNIII14 についてはプロテアーゼ抵抗性の付与を、それぞれ検討した。

ペプチド TNIII 分子内の活性配列の限局: TNIII (RSTDLPGLKAATHYTITIRGV) 内の活性モチーフである YTITIRGV に関して、活性配列を更に限局する目的でアラニンスキャンを行った。即ち、上記配列をそれぞれアラニンに変換した変異ペプチドについて、TNIII 活性（インテグリン活性化作用及び WI38VA16 細胞死誘導作用）を測定することにより、必須アミノ酸を評価した。まず、活性モチーフ内の 2 ヶ所の I (Ileu) は活性発現に必須であることが判明した。更に、TNIII 内の 3 ヶ所の塩基性アミノ酸をそれぞれアラニンに変換した場合の活性消失はわずかだったものの、グルタミン酸に変換すると TNIII 活性はほぼ消失した。

以上の結果に TNIII の作用発現にヘパラン硫酸との結合が必要との前述の結果を併せ考慮すると、TNIII の活性発現には活性モチーフ内の Ileu が必須であるのみならず、ヘパラン硫酸鎖との結合に TNIII 内の塩基性アミノ酸が機能するのではないかと考えられる。

ペプチド FNIII14 のプロテアーゼ抵抗性付与: FNIII14 をヒト血清中で放置すると、37°C では 3 時間以内に 70%活性が消失することから、血清中のアミノペプチダーゼ標的とし、それに対する抵抗性の付与を試みた。FNIII14 (TEATITGLEPGTEYTIYVIAL) の N 末端修飾として、アセチル化、メチル化、N 末端側 E (Glu) の D-Glu 置換体をそれぞれ合成し、まず FNIII14 活性を評価した。FNIII14 活性としては、A375SM メラノーマの FN 接着に対する阻害作用および K562 細胞の $\beta 1$ インテグリン不活性化作用（活性型 $\beta 1$ 認識抗体 AG89 を用いた FACS 解析）を測定した。その結果、どの修飾ペプチドも非修飾 FNIII14 と同等の活性を保持していることが明らかになった。そこで更に、これらのペプチドのヒト血清中での安定性を評価した。非修飾 FNIII14 が 37°C、3 時間インキュベーションによって 70%活性が消失したのに対し、N 末端修飾ペプチドはいずれも有意な活性保持が認められ、特にメチル化体では活性消失は 40%に抑えられた。現在、抗がん剤を内包する FNIII14 リポソームを調製すべく、メチル化ペプチドの更なる修飾を検討している。

III. 考察

受容体を介した TNIII の作用発現機序については、syndecan-4 を受容体とする分子機構がほぼ明らかになった。今後の課題として、TNIII によって syndecan-4 と $\beta 1$ インテグリンがそれぞれのどの分子領域で相互作用するか、あるいは両分子が脂質／ラフトに移行するメカニズムの解明等が上げられる。特に、前者の課題については、新たなインテグリン不活性化手法につながる可能性を秘めている。悪性腫瘍細胞の接着依存性抗がん剤耐性解除への応用も考えられ、重要な課題と考えている。

TNIII による悪性細胞のプログラム細胞死誘導機序については、プログラム細胞死を誘導する TNIII は活性変異型 Ras を発現する細胞に対して特異的に細胞死を誘導する可能性が示された。活性変異型 Ras は代表的ながん遺伝子一つであり、ヒトがんの 30% 以上で Ras の活性化変異が認められていることから、TNIII には悪性細胞に対して特異的に殺傷作用を示す薬物としての利用が期待される。今後、様々な正常および悪性腫瘍細胞を用いて確認すべきであると考えている。

FNIII14 による AML 細胞の骨髄微小残存の根絶に関する結果は、AML の再発防止法を確立する上で極めて重要な知見である。接着依存性薬剤耐性は、多くの固形がんはもとより、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、多発性骨髄腫でも機能していることが報告されており、これらの造血器悪性腫瘍の治療への応用も期待される。いずれにせよ、FNIII14 のヒト臨床例への応用を考える上においては、FNIII14 の反接着作用の発現機序を解明すると共に、FNIII14 の高機能化が芯務な課題といえる。

IV. 研究成果の発表

1. Takuya Matsunaga,^{1*} Fumio Fukai,^{2*} Shogo Miura,² Yoshitomi Nakane,² Maki Tanaka,¹ Rishu Takimoto,¹ Tetsuji Takayama¹, Junji Kato¹ and Yoshiro Niitsu “Combination therapy of an anti-cancer drug with the FNIII14 peptide of fibronectin effectively overcomes cell adhesion mediated-drug resistance of acute myelogenous leukemia” *Leukemia* Submitted, 2007
2. Yohei Saito¹, Shogo Miura¹, Hisae Imazeki¹, Tomohisa Yoshimura¹, Sadahiro Kamiya¹, Hiroaki Okutsu¹, Osamu Nagao¹, Ryo Hayashi², Hiroaki Kodama², Hiroshi Handa³, Toshimichi Yoshida⁴, and Fumio Fukai¹ “A Peptide Derived from Tenascin-C Induces The $\beta 1$ Integrin Activation Through its Lateral interaction with Syndecan-4” *J Biol Chem* Submitted, 2007
3. Habara, H., Imazeki, H., Eguchi, T., Miura, S., Saito, Y., Yoshimura, H., Owaki, T., and Fukai, F. “Programmed Cell Death of Malignant Cell Types induced by Integrin Activation” In preparation.
4. Saito, Y., Miura, S., Saze, M., Maeda, M., Owaki, T., and Fukai, F. “Adhesion-Induced Programmed Death of Lymphoma Cells” In preparation, 2007
5. Saito, Y., Seki, Y., Okutsu, H., Harada, Y., Sekine, R., Owaki, T., Fukai, F. “Integrin Activation Induces Autophosphorylation of Platelet-Derived Growth Factor Receptor independent of FAK/Src and Shc/Caveolin Pathways” In

preparation.

6. Miura, S Kamiya, S., Saito, Y., Wada, S., Hayashi, R., Taira, J., Kodama, H., Yajima, H., Ueki, M., and Fukai, F. "Antiadhesive sites present in the fibronectin type III-like repeats of human plasma fibronectin. *Biol Pharm. Bull.* 30:8 91-897, 2007
7. Asakawa, H., Sasabe, M., Miyazaki, R., Matsuda, H., Fukai, F., Hanada, K., and Takasaki, S. "The analysis of N-glycolylneuraminic acid (NeuGc) of hepatoma tissue and K562 cell ferritins using HPLC and mass spectrometry" *Proc Japan Acad Phys Biol Sci* 82: 181-187, 2006
8. Yang, J., Yamato, M., Kohno, C., Nishimoto, A., Sekine, H., Fukai, F., and Okano, T. "Cell sheet engineering: recreating tissues without biodegradable scaffolds." *Biomaterials* 26, 6 415-6422, 2005
9. Imazeki, H., Miura, S., Hayashi, R., Kodama, H., Fukai, F. "Activation of Beta1 Integrins by the FNIII14 Analogous Peptide Induced Programmed Cell Death of Malignant Cell Types" *Peptide Science* 2004, 237-240, 2005
10. Tukuda, J., Nakane, Y., Saito, Y., Fukai, F. "Integrin Activity-Inhibitory Peptide FNIII14 Increases the Chemosensitivity of Melanoma Cells to Anticancer Drugs and Suppresses Tumor Metastasis" *Peptide Science* 2004: 271-274, 2005
11. Goto, S., Ezoe, Y., Endo, O., Machii, K., and Fukai, F. "Inhibition of intercellular communication in BALB/3T3 fibroblasts by cigarette smoke condensates" *J. Envi, : Chem.* 14 : 307-315, 2004
12. Yamashiro, M., Saito, Y., Ueki, M., and Fukai, F. "Fibronectin-and tenascin-derived peptides modulate cell proliferation and survival through regulation of integrin activity." *Peptide Sci.* 2003: 119-122, 2004
13. Imazeki, H., Miura, S., Isaka, T., Kodama, H., and Fukai, F. "Programmed cell death induction of malignant cell types by integrin signal activation" *Peptide Sci.* 2003: 123-126, 2004
14. Saze, M., Koizumi, S., Oga, Y., Nomizu, M., Yajima, H., and Fukai, F. "Apoptosis induction of leukemia cells by the integrin activation peptide derived from tenascin-C." *Peptide Sci.* 2003: 351-354, 2004
15. Tsukuda, J., Ueki, M., and Fukai, F. "Integrin activity inhibitory peptide FNIII14 increases the susceptibility of melanoma cells to anticancer drugs." *Peptide Sci.* 2003: 355-358, 2004